

ICP-MS法同时测定人工蛹虫草中4种重金属元素的含量^Δ

张勇^{1*}, 卓宝松², 刘宝岩², 康文艺^{1#} (1. 黄河科技学院纳米研究所, 郑州 450063; 2. 濮阳市天元虫草研究有限公司, 河南濮阳 457000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)12-1684-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.12.28

摘要 目的: 建立同时测定人工蛹虫草中4种重金属元素含量的方法。方法: 采用硝酸加热法消解样品, 采用电感耦合等离子体质谱法进行测定; 射频功率为1.15 kW, 采样深度为65 mm, 辅助气流速为1.0 L/min, 冷却气体流量为13.0 L/min, 环境温度为25 ℃, 自动等离子体观测。结果: 砷、镉、汞、铅检测质量浓度线性范围分别为0~20 μg/mL ($r=0.997\ 0$)、0~10 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、0~5 μg/mL ($r=0.995\ 5$)、0~20 μg/mL ($r=0.996\ 0$); 检测限分别为0.128、0.003、0.002、0.004 mg; 精密度、稳定性、重复性试验的RSD<6.5%; 加样回收率分别为90.4%~100.6% (RSD=3.45%, $n=9$)、94.3%~101.3% (RSD=2.93%, $n=9$)、90.0%~102.3% (RSD=4.03%, $n=9$)、92.3%~103.0% (RSD=3.53%, $n=9$)。结论: 该方法操作简便, 精密度、稳定性、重复性好, 可用于人工蛹虫草中4种重金属元素含量的同时测定; 所测10批人工蛹虫草中As、Cd、Hg、Pb 4种重金属元素含量均符合国家相关标准。
关键词 人工蛹虫草; 重金属; 电感耦合等离子体质谱

Simultaneous Determination of Contents of 4 Heavy Metal Elements in Cultured *Cordyceps militaris* by ICP-MS

ZHANG Yong¹, ZHUO Baosong², LIU Baoyan², KANG Wenyi¹ (1. Institute for Nano Research, Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China; 2. Puyang Tianyuan Cordyceps Research Co., Ltd., Henan Puyang 457000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the simultaneous determination of contents of 4 heavy metal elements in cultured *Cordyceps militaris*. METHODS: The samples were digested by nitric acid heating method and then determined by ICP-MS including radio-frequency power of 1.15 kW, sampling depth of 65 mm, auxiliary gas flow rate of 1.0 L/min, cooling gas flow of 13.0 L/min, temperature of 25 ℃, automatic plasma. RESULTS: The linear ranges of arsenic (As), cadmium (Cd), mercury (Hg) and lead (Pb) were 0-20 μg/mL ($r=0.997\ 0$), 0-10 μg/mL ($r=0.999\ 5$), 0-5 μg/mL ($r=0.995\ 5$), 0-20 μg/mL ($r=0.996\ 0$), respectively. Detection limit were 0.128, 0.003, 0.002, 0.004 mg. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 6.5%. Recoveries of them were 90.4%-100.6% (RSD=3.45%, $n=9$), 94.3%-101.3% (RSD=2.93%, $n=9$), 90.0%-102.3% (RSD=4.03%, $n=9$), 92.3%-103.0% (RSD=3.53%, $n=9$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, precise, stable, reproducible, and can be used for simultaneous determination of contents of 4 heavy metal elements in cultured *C. militaris*. The contents of As, Cd, Hg and Pb in 10 batches of sample are all in line with related national standards.

KEYWORDS Cultured *Cordyceps militaris*; Heavy metals; ICP-MS

蛹虫草 *Cordyceps militaris* 又名北冬虫夏草、北虫草等, 是虫草菌寄生在鳞翅目、鞘翅目、双翅目等昆虫蛹体及幼虫形成的虫菌复合体^[1], 为我国传统名贵药食同源中药材之一^[2]。蛹虫草与冬虫夏草的活性成分接近, 且人工栽培技术成熟, 因此其已成为野生冬虫夏草的理想替代品^[3]。蛹虫草被批准为新资源食品^[4], 可用于保健食品的研究、生产和加工。重金属不同于有机化合物, 可以通过自然界本身物理、化学或生物改变进行分解, 其具有富集性, 且不易降解, 可富集在食物链中, 对

人体有着很大的潜在危害^[5-6]。有研究发现, 蛹虫草具有较强的环境重金属富集能力, 可影响其药用活性成分的含量^[7-8]。因此, 建立蛹虫草有害成分质量分析方法意义重大。

本研究采用电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 同时测定了不同批次人工蛹中铅 (Pb)、镉 (Cd)、汞 (Hg)、砷 (As) 4 种重金属含量, 旨在为深入了解重金属元素在人工蛹虫草中的分布提供参考, 也为其综合利用提供依据。

1 材料

1.1 仪器

DHG-9203A 型电热鼓风干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司); 600Y 型多功能粉碎机 (永康市铂欧五金制品有限公司); AL104 型电子分析天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; C-MAG HP 7 型电热板 (德国

^Δ 基金项目: 河南省产学研项目 (No.162107000038); 河南省高等学校重点科研项目 (No.17B360005)

* 助教, 硕士。研究方向: 天然药物活性成分。E-mail: zy890113@126.com

通信作者: 教授。研究方向: 天然产物化学。电话: 0371-87540853。E-mail: kangweny@hotmail.com

IKA公司);ICP-MS仪(美国Thermo Scientific公司)。

1.2 试剂

Pb标准品溶液(批号:GSB 04-1742-2004)、Cd标准品溶液(批号:GSB 04-1721-2004)、Hg标准品溶液(批号:GSB 04-1729-2004)、As标准品溶液(批号:GSB 04-1714-2004)均购自国家标准物质研究中心,质量浓度均为1 000 $\mu\text{g/mL}$,硝酸为优级纯,水为纯化水。

1.3 药材

蛹虫草药材(由河南省濮阳天元虫草研究有限公司提供,批号:s1~s10)由河南大学药学院中药研究所李昌勤教授鉴定为真品。标本存放于河南大学中药研究所。

2 方法与结果

2.1 ICP-MS条件

射频功率:1.15 kW;采样深度:65 mm;辅助气流速:1.0 L/min;冷却气体流量:13.0 L/min;环境温度:25 $^{\circ}\text{C}$;自动等离子体观测。

2.2 溶液的制备

2.2.1 标准品溶液 精密吸取“1.2”项下各待测元素标准品溶液适量,加2%硝酸制成Cd(0、0.5、2.5、5、10 $\mu\text{g/mL}$)、Hg(0、0.2、0.5、1、2、5 $\mu\text{g/mL}$)、Pb(0、1、5、10、20 $\mu\text{g/mL}$)、As(0、1、5、10、20 $\mu\text{g/mL}$)系列单一标准品溶液^[9]。

2.2.2 供试品溶液 取50 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥3 h的药材样品粗粉约0.2 g,精密称定,置于耐高温坩埚中,加2%硝酸5 mL,密闭浸泡过夜,置电热板上加热消解,保持微沸,若变黑色,再加2%硝酸适量,持续加热至溶液澄清后升高温度,继续加热至冒浓烟,至白烟散尽,消解液略带黄色,放冷,转入50 mL量瓶中,用少量2%硝酸洗涤坩埚3次,合并洗涤液至量瓶中,加2%硝酸定容,混匀,即得^[10]。

2.2.3 空白对照溶液 按“2.2.2”项下“加2%硝酸5 mL”之后方法操作,即得。

2.3 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下系列单一标准品溶液各10 μL ,按“2.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值。以待测元素质量浓度(x , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、仪器响应值(y)为纵坐标进行线性回归,得As、Cd、Hg、Pb回归方程分别为 $y=0.906x+3.657$ ($r=0.997\ 0$)、 $y=31.43x+3.098$ ($r=0.999\ 5$)、 $y=1.673x+3.146$ ($r=0.995\ 5$)、 $y=0.402x+0.162$ ($r=0.996\ 0$)。结果表明,As、Cd、Hg、Pb检测质量浓度线性范围分别为0~20、0~10、0~5、0~20 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4 检测限考察

精密量取“2.2.3”项下空白对照溶液适量,按“2.1”项下ICP-MS条件连续进样测定11次,以空白对照溶液测

定值的3倍标准偏差除以相应元素标准曲线的斜率得检测限。结果,As、Cd、Hg、Pb检测限分别为0.128、0.003、0.002、0.004 mg。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下标准品溶液(Cd、Hg、Pb、As标准品溶液质量浓度分别为2.5、0.5、5、5 $\mu\text{g/mL}$)适量,按“2.1”项下ICP-MS条件连续进样测定6次,记录仪器响应值。结果,As、Cd、Hg、Pb仪器响应值的RSD分别为4.27%、5.56%、3.14%、1.13% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:s1)适量,分别于室温下放置8 h、16 h、24 h、31 d、38 d、45 d时按“2.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值。结果,As、Cd、Hg、Pb仪器响应值的RSD分别为3.85%、6.48%、5.40%、1.42% ($n=6$),表明供试品溶液在室温放置45 d内基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:s1)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值。结果,As、Cd、Hg、Pb仪器响应值的RSD分别为3.71%、4.17%、2.57%、1.32% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量样品(批号:s1)适量,每份0.2 g,共9份,分别加入高、中、低质量的待测元素标准品溶液,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值并计算加样回收率^[11-12],结果见表1。

2.9 样品中重金属元素含量测定

取10批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下ICP-MS条件进样测定,记录仪器响应值并计算样品含量,结果见表2。

3 讨论

本课题组采用ICP-MS对人工蛹虫草中4种重金属元素同时进行分析测定,参照现行《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》、2015年版《中国药典》(一部)、《食品中放射性物质限制浓度标准》限量指标规定^[13]:重金属总量 ≤ 20.0 mg/kg, As ≤ 2.0 mg/kg, Cd ≤ 0.3 mg/kg, Hg ≤ 0.2 mg/kg, Pb ≤ 5.0 mg/kg。有研究表明,人工蛹虫草中As、Cd、Hg、Pb 4种重金属元素残留量在标准限制范围内,不同批次药材中重金属As、Pb含量差异较大,可能与人工培育环境相关。

中药使用周期较长,且Pb、Cd等重金属元素可在生物体内蓄积,其半衰期长,不易分解,达到一定数量后,

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests(n=9)

待测元素	样品含量, μg/L	加入量, μg/L	测得量, μg/L	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
As	2.449	4	6.138	92.2	95.79	3.45
	2.449	4	6.473	100.6		
	2.449	4	6.413	99.1		
	2.451	10	11.487	90.4		
	2.451	10	12.021	95.7		
	2.451	10	12.211	97.6		
	2.261	20	20.721	92.3		
	2.261	20	21.441	95.9		
	2.261	20	21.121	94.3		
Cd	0.103	4	4.098	99.9	97.94	2.93
	0.103	4	4.095	99.8		
	0.103	4	3.967	96.6		
	0.101	10	10.221	101.2		
	0.101	10	9.531	94.3		
	0.101	10	9.641	95.4		
	0.133	20	20.393	101.3		
	0.133	20	19.873	98.7		
	0.133	20	18.993	94.3		
Hg	0.456	4	4.014	90.0	94.50	4.03
	0.456	4	4.060	90.1		
	0.456	4	4.184	93.2		
	0.423	10	9.703	92.8		
	0.423	10	9.963	95.4		
	0.423	10	10.203	97.8		
	0.416	20	18.676	91.3		
	0.416	20	20.876	102.3		
	0.416	20	19.936	97.6		
Pb	13.92	4	17.976	101.4	97.2	3.53
	13.92	4	18.04	103.0		
	13.92	4	17.876	98.9		
	13.419	10	23.059	96.4		
	13.419	10	23.139	97.2		
	13.419	10	22.889	94.7		
	13.53	20	32.97	97.2		
	13.53	20	31.99	92.3		
	13.53	20	32.21	93.4		

表2 样品中重金属元素含量测定结果(n=3, mg/kg)

Tab 2 Results of contents determination of heavy metals in samples(n=3, mg/kg)

样品批号	As	Cd	Hg	Pb
s1	1.802	0.023	0.053	-
s2	1.174	0.023	0.107	3.522
s3	1.456	0.020	-	1.554
s4	0.145	0.021	-	1.286
s5	1.355	0.021	0.115	-
s6	1.526	0.028	-	0.15
s7	-	0.023	0.016	-
s8	1.101	0.023	-	0.331
s9	0.612	0.025	0.114	3.482
s10	1.736	0.026	-	1.755

注：“-”为未检出

Note:“-”means no detected

可呈现毒性作用^[14], 对人体的用药安全性存在潜在危害, 所以必须重视重金属元素含量超标导致的慢性中毒。

不同药用部位吸收重金属能力存在差异, 不同生长环境如土壤、水分等含有的重金属含量亦有不同, 因此重金属元素在不同部位的含量不同^[15]。不同批次蛹虫草对重金属元素的吸收、富集能力不同, 且文献[3]报道植物不同部位中重金属元素含量分布也存在特异性, 故今后需针对人工蛹虫草的不同部位分别进行重金属元素含量分析。

参考文献

- [1] 李军, 陈广生, 方清茂, 等. 人工培养蛹虫草与冬虫夏草的比较研究[J]. 成都中医药大学学报, 2010, 33(3): 82-83.
- [2] 张国财, 赵博, 刘春延, 等. 响应面法优化超声波-微波协同提取富硒蛹虫草硒多糖工艺[J]. 食品科学, 2016, 37(12): 33-39.
- [3] 樊慧婷, 林洪生. 蛹虫草化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(15): 95-97.
- [4] 叶洲. 卫生部批准蛹虫草为新资源食品[J]. 中国保健食品, 2009(5): 14.
- [5] 朱萌, 李维焕, 程显好, 等. 真菌对重金属生物吸附机制的研究进展[J]. 工业用水与废水, 2012, 43(6): 7-10.
- [6] 安鑫龙, 周启星. 大型真菌对重金属的生物富集作用及生态修复[J]. 应用生态学报, 2007, 18(8): 1897-1902.
- [7] 左言美, 程显好, 朱萌, 等. 锌富集对蛹虫草菌丝体内虫草素、腺苷含量的影响[J]. 菌物研究, 2013, 11(2): 124-128.
- [8] 左言美, 程显好, 朱萌, 等. 锰离子胁迫对蛹虫草菌丝体内虫草素、腺苷含量的影响[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(16): 1363-1368.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 205-206.
- [10] 张剑, 王祯旭, 李秀梅. 微波消解-电感耦合等离子质谱法测定蜂胶制品中5种重金属元素的含量[J]. 中国药业, 2016, 25(5): 52-54.
- [11] 胡军高, 梁旭霞, 梁晓艳, 等. ICP-MS检测十一味参芪胶囊中常见金属元素[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(3): 342-346.
- [12] 郭福团, 庄波阳, 郭仙忠, 等. 9个企业复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊壳中8种金属元素的含量分析[J]. 中国药房, 2015, 26(1): 121-123.
- [13] 赵连华, 杨银慧, 胡一晨, 等. 中国中药材中重金属污染现状分析及对策研究[J]. 中草药, 2014, 45(9): 1199-1206.
- [14] 黄永东, 黄永川, 于官平, 等. 蔬菜对重金属元素的吸收和积累研究进展[J]. 长江蔬菜, 2011(10): 1-6.
- [15] 王晶, 黄伟雄, 梁晓艳, 等. ICP-MS法测定蛹虫草菌丝体干粉中12种金属元素[J]. 中成药, 2016, 38(5): 1083-1087.

(收稿日期: 2016-10-20 修回日期: 2016-12-15)

(编辑: 张静)